<table>
<tr><td></td><td colspan="4">ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

ЛАБОРАТОРИЯ ТОКСИКОЛОГИИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА
ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
С ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ</td></tr>
<tr><td colspan="2">СОП №:</td><td>Номер версии:</td><td colspan="2">Число страниц:</td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="3">IV/2П-015-2022/3</td><td>3</td><td colspan="2">8</td></tr>
<tr><td>Дата начала действия версии СОП:</td><td colspan="2">Дата окончания действия версии СОП</td></tr>
<tr><td>15.06.2022</td><td colspan="2">15.06.2024</td></tr>
<tr><td>Наименование СОП:</td><td colspan="4">Изучение двигательной активности крысят (тест «открытое поле 1»).</td></tr>
<tr><td>Составлено/
Пересмотрено:</td><td>_____
подпись</td><td>20.05.2020/
08.06.2022
дата</td><td colspan="2">Т.Д. Денисова</td></tr>
<tr><td>Проверено:
Руководитель СОК</td><td>_____
подпись</td><td>10.06.2022
Дата</td><td colspan="2">В.Н. Перфилова</td></tr>
<tr><td>Утверждено:
Руководитель лаборатории</td><td>_____
подпись</td><td>13.06.2022
дата</td><td colspan="2">Л.И. Бугаева</td></tr>
<tr><td colspan="2">Форма обучения:</td><td>чтение</td><td colspan="2">практические занятия ✓</td></tr>
</table>

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. ЦЕЛЬ: описание процесса выполнения теста «открытое поле-1» у крысят.

1.2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ:

СОП - предназначена сотрудникам, принимающим участие в исследованиях по репродуктивной токсикологии и является обязательным для изучения.

2. НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

2.1. ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН №61-ФЗ «ОБ ОБРАЩЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ» (с изменениями и дополнениями ФЗ от 13.07.2015 N 241-ФЗ и ФЗ от 22.12.2014 N 429-ФЗ в редакции от 13.07.2015)

2.2. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33044—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Guide 1:1998 (“OECD principles of good laboratory practice”, IDT))

3. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

За выполнение данной процедуры несет ответственность научный сотрудник (исследователь) лаборатории токсикологии, имеющий соответствующие знания и опыт работы, прошедший обучение по данной СОП

4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Изучение двигательной активности в тесте «открытое поле-1», у крысят в период вскармливания применяют в исследованиях по репродуктивной токсикологии. Данный тест на необученных животных (крысятах), позволяет получить важную информацию о различных функциях головного мозга (например: - *соматическая функция* - восприятие внешних раздражений и двигательные реакции, осуществляемые скелетной мускулатурой). Тестирование двигательной активности крысят в период вскармливания, входит в методы по изучению за развитием потомства в постнатальный период («Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», 2012).

Изучение двигательной активности у крысят начинают с 6-го дня после рождения, затем на 17-20-е дни с использованием установки «открытое поле TS1501-M3», квадратное. Помещенные на незнакомую открытую площадку животные демонстрируют ориентировочно-исследовательские реакции, такие как: *замирание* - оценка риска; изменение *двигательной* (исследовательской) *активности* (оценивают по количеству пересеченных квадратов, начерченных на полу - горизонтальная активность); *число стоек и карабканье на стенки* - показатель исследовательского поведения (Буреш Я, Бурешова О., Хьюстон Д.П., 1991).

5. ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Онтогенетическая токсичность (developmental toxicity) - токсическое действие на репродуктивную функцию, проявляющееся в пренатальных, перинатальных и постнатальных структурных или функциональных нарушениях у потомства.

Репродуктивная токсичность (reproduction toxicity) - неблагоприятное воздействие на потомство или ослабление мужских и женских репродуктивных функций или способностей.

6. СОКРАЩЕНИЯ

СОП – стандартная операционная процедура

7. ПРИМЕНЯЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ/ИНСТРУМЕНТЫ/РЕАКТИВЫ

7.1. Клетки для содержания животных
7.2. Маркер для обозначения нумерации животных
7.3. Установка «открытое поле» TS 1501-M3 (Россия, г. Москва)
7.4. Секундомер.
7.5. Счетчик лабораторный
7.6. Журнал регистрации данных
7.7. Шариковая ручка

8. ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ

8.1. Для выполнения манипуляции, крысенка по одному достают из клетки для содержания и проводят тестирование каждого в отдельности (предварительно крысу самку отсаживают от потомства).

Р*еакция постановки лап на опору*

8.2. Для выполнения рефлекса в тесте **«поднимание головы и передних лап»**,

- крысенка держат за хвост и медленно переворачивают вниз, пока вибриссы не прикоснуться к краю стола. Животное поднимает голову и протягивает лапы к столу.

- поднятое животное передвигают горизонтально так, чтобы тыльная сторона передних конечностей касалась края стола. Передняя лапа сразу же ставится на поверхность стола.

- поднятое животное опускают так, чтобы ее подбородок касался края стола. Обе передние лапы крыса кладет на стол рядом с подбородком.

Проведение опыт начинают с 6-го дня (в среднем 8-9 дни) после рождения (предполагаемый день созревания у контрольных животных), до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

8.3. Для выполнения рефлекса в тесте **«ползание»**, крысят помещают на плоскую поверхность и наблюдают за ними. Если крысенок перемещается (ползет) по поверхности, то рефлекс считается сформированным (в среднем 9-11 дни, после рождения). Наблюдения проводят до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

8.4. Для выполнения рефлекса в тесте **«опора на задние конечности, подъем всего тела»,** животное держат на краю стола и сдвигают одну переднюю или одну заднюю конечность так, чтобы она свешивалась с края стола. Лапа немедленно будет подтянута на поверхность стола. Опыт проводят на 13-15 дни после рождения до полного формирования рефлекса во всех контрольных пометах.

8.5. Крысенка помещают на середину площадки и в течение 3 мин., регистрируют двигательную активность:

- число пересеченных квадратов,
- умывания различного рода,
- обнюхивания,
- стойки,
- карабканье на стенки,
- прыжки,
- время отсутствия активности,
- возможные аномалии походки. Тестирование проводят во всех исследуемых группах. Результаты заносят в журнал регистрации данных (Приложение А).

8.6. По окончании тестирования, крысенка возвращают обратно в клетку для содержания.

9. СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

9.1. Буреш Я, Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения // М. Высшая школа. – 1991. С.96-109.

9.2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств// Под общей редакцией д.м.н. А.Н.Миронова. Москва, 2012. Часть первая. С.80-93.

10. ПРИЛОЖЕНИЕ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Лаборатория токсикологии

НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

СОГЛАСОВАНО
Руководитель СОК
_____ В.Н. Перфилова
«___» _____20___г.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЦ
_____Л.И. Бугаева
«___» _____20___г.

Журнал регистрации первичных данных двигательного поведения крысят в тесте «открытое поле 1»

Место хранения: 400087, г. г. Волгоград, ул. Новороссийская, д. 39. Помещение _____

Начат	
Окончен	

Список сотрудников, допущенных к заполнению журнала регистрации первичных данных двигательного поведения крысят в тесте «открытое поле 1».

№ п/п	Должность	Ф.И.О.	Подпись
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			

Карта регистрации первичных данных двигательного поведения крысят в тесте «открытое поле-1»

Код исследования; _____

Дата проведения эксперимента_____ Время _____

От крысы самки _____ Группа _____ Вещество_____ Доза _____

Путь введения_____

№ п/п	Исследуемые параметры										
	Поднимание головы и передних лап	Ползание	Опора на задние конечности и подъем всего тела	Число пересеченных квадратов	Умывания различного рода	Обнюхивания	Стойки	Карабканье на стенки	Прыжки	Время отсутствия активности (сек.)	Возможные аномалии походки

Лист регистрации изменений от «08» июня 2022 в СОП № IV/2П-015-2022/3 версия 3

№ изм.	№ страницы	№ пункта	Внесенные изменения
1	1		Логотип ВолгГМУ Старого образца. **изменено на** Логотип нового образца
2	1		Название Исследование двигательной активности в период вскармливания потомства (тест «открытое поле 1»). **изменен на** Изучение двигательной активности крысят (тест «открытое поле 1») Номер IV/2П-2.020-2020 **изменен на** СОП № IV/2П-015-2022/3
3	1		Согласно СОП 1/1П-001-2021 на титульном листе **убраны** графы: дата утверждения, дата пересмотра. **Добавлено**: составлено/пересмотрено. Графа- Дата начала действия **изменена** на Дата начала действия версии СОП. **Добавлено** – Дата окончания действия версии СОП.
4	1	1	Заголовок п.1 Назначение и область применения **изменена на** Назначение ЦЕЛЬ данной стандартной операционной процедуры (СОП) описать метод изучения двигательной активности в установке «открытое поле-1», у крысят в период их молочного вскармливания **изменена на** 1.1. Цель: описание процесса выполнения теста «открытое поле-1», у крысят Подпункт 1.1. СОП предназначена всем сотрудникам, выполняющим манипуляции и владеющим методом при изучении двигательной активности у крысят в период их вскармливания. **изменены на** 1.2. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ: СОП - предназначена научным сотрудникам, принимающим участие в исследованиях по репродуктивной токсикологии и является обязательным для изучения
5	1	2	**НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ** 2.2. ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ПРАВИЛ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 №199н) - **Убран**
6	2		колонтитул из 4-граф **изменен** на 3 графы (убрано- начало действия) в колонтитуле графа с номером СОП указан номер версии через дробь
7	2	3	П.3 Общие положения **удалены**.

			П.4 Ответственность за выполнение работ по процедуре **изменена на** П.3 Ответственность
8	2	4	**Добавлен** п. 4 Область применения
9	2		Термины и определения **присвоен** п.5
10	2		**Добавлен** п.6 Сокращения
11	2	5	П.5 Применяемое оборудование/инструменты **изменен** на п.7 **Добавлено** Клетки для содержания животных Маркер для обозначения нумерации животных Шариковые ручки Журнал регистрации первичных данных
12	2	6	Процедура выполнения **изменена** на п.8.
13	3	7	Ссылки **изменены** на п.9 Список используемых источников
14	4	8	п. 8 Приложения **изменено** на п.10 Карта регистрации первичных данных – **удалена** Вместо нее **добавлен** журнал регистрации данных

Руководитель лаборатории:

«13_»июня____2022____г._____/_Бугаева Л.И._____/

дата подпись расшифровка